**مقارنة مستخلصات بذور الأفوكادو ودراسة خواصها المضادة للأكسدة وتطبيقها في الأنظمة الغذائية**

**عالية جميل علي(1)\***

1. قسم علوم الاغذية، كلية الزراعة، جامعة البصرة، البصرة، العراق.

(\* للمراسلة: الدكتورة: عالية جميل علي، alya.ali@uobasrah.edu.iq )

تاريخ الاستلام: 5/06/2021 تاريخ القبول:30/12/2021

 **الملخص:**

هدف البحث إلى دراسة الخصائص المضادة للأكسدة لمستخلصات الميثانول، المائي والأسيتون لبذور الأفوكادو (*Persea americana* Mill. Var. Hass) المأخوذة من أسواق محافظة البصرة في العراق والمستوردة من نيروبي (كينيا)، تضمنت اختبار فعالية مستخلصات بذور الأفوكادو في تثبيط أكسدة حمض اللينوليك وقابلية اقتناص المستخلصات لنوعين من الجذور الحرة (DPPH,NO)، وقورنت مع خصائص مضادات الاكسدة القياسية كالألفا توكوفيرول والكاتكين وحمض الأسكوربيك بطرق مختلفة وأجري تقييم أكسدة بيرغر اللحم البقري من خلال تقدير كربونيل بروتينات اللحم بطريقة (DNPH). بينت النتائج قدرة المستخلصات العالية على تثبيط بيروكسيدات حمض اللينوليك بمدة حضن ما بين 20-100 ساعة وكان المستخلص الميثانولي أكثرها فعالية يليه المستخلص المائي ثـــــم المستخلص الاسيتوني. تراوحت النسبة المئوية لاقتـاص المستخلص الميثانولي، المائي والاسيتونـي لجذر DPPH(65.1-22.0),(73.0-29.1) و(17.4-61.4)% على التوالي عند التراكيز (50-250) ميكروغم/مل، فيما تراوحت نسبة اقتناص جذر أوكسيد النتريت (28.9-81.9 ),(20.9– 75.9) و(15.7–61.0)% للمستخلص الايثانولي, والمائي والاسيتوني على التوالي للتراكيز (100-1000) ميكروغرام/مل، كما بينت النتائج قدرة المستخلصات على تثبيط أكسدة بروتينات بيرغر اللحم البقري من خلال تقدير كربونيل البروتينات عند الأيام (15,10,5,0) في الخزن المبرد وباختلاف تراكيز المستخلصات. وبالتالي أن النشاط الحيوي لدقيق بذور الأفوكادو يوفر قيمة مضافة للنفايات العضوية إضافة إلى قيمتها الاقتصادية.

**الكلمات المفتاحية**: بذور الأفوكادو، الخصائص المضادة للأكسدة، كربونيل البروتين.

**المقدمة**

 تعتبر بذور فاكهة الأفوكادو من المنتجات ذات الخواص الحيوية والمأخوذة من شجرة الأفوكادو دائمة الخضرة التي تنتمي إلى عائلة Lauraceae وموطنها الرئيسي المكسيك وامريكا الوسطى وامريكا الجنوبية لكنها تزرع الآن في جميع أنحاء العالم (Adodo, 1995). وهي ذات خصائص مضادة للالتهابات والسرطان كما أنها مفيدة في منع أكسدة الانظمة الغذائية مثل بيرغر اللحم ومستحلبات زيت عباد الشمس، كما تبين فعالية البذور في منع الاكسدة ونمو الميكروبات فهي تبطئ الاكسدة بنسبة تزيد عن 60% (Gómez *et al*., 2014; Pacheco *et al*., 2017) تُهدر قشور وبذور الفاكهة كالأفوكادو والخوخ والبرتقال والعنب وكذلك قشور المكسرات رغم احتواءها على كميات عالية من مضادات الأكسدة، وهذه المنتجات الثانوية يمكن الاستفادة منها في صناعات مختلفة مثل مستحضرات التجميل والأدوية والمستحضرات الصيدلانية والإضافات الغذائية (Wang *et al*., 2015). إنّ استعادة المركبات النشطة بيولوجيا من مواد النفايات المختلفة هو المحور الرئيس للعديد من الدراسات العلمية حيث أن الصناعات الزراعية تثمن هذه المنتجات الثانوية من خلال إنتاج كميات وافرة منها والتي طبقت كمركبات لها خواص وظيفية متعددة كمضادات الأكسدة، والملونات والمستحلبات والمكثفات (Dias *et al*., 2016). بدأت الصناعات الغذائية والأوساط الأكاديمية في إيلاء اهتمام خاص للمنتجات الغذائية الثانوية من أجل إعادة تقييمها مع الحفاظ على تحكم أفضل في إدارة النفايات وإيجاد بدائل لاستخدام المحاصيل الغذائية في تطبيقات عديدة (Sharma *et al*., 2017). فاكهة الأفوكادو عبارة عن توت ببذرة كبيرة واحدة, يحتوي الصنف Hass من الأفوكادو على حوالي 14٪ و 16٪ على التوالي من المنتجات الثانوية من إجمالي وزن الفاكهة في قشورها ونواتها، وهو ما يمثل حوالي 30٪ من وزنها (Calderón-Oliver *et al*., 2016). من العوامل الرئيسية التي تؤثر بشكل كبير على العناصر الغذائية للأفوكادو هي التنوع ودرجة النضج والمناخ وتكوين التربة والأسمدة (Pacheco *et al*., 2017). تعتبر بذور الأفوكادو مصدر جيد للكربوهيدرات والبروتين والدهون وبعض المعادن كالمغنيسيوم والكالسيوم والفوسفور وتحتوي على تراكيز عالية من مضادات الاكسدة كالاحماض الفينولية والتانين والفلافونيدات ومن بين الفينولات مركبي catechin, epicatechin, ومركبleucoanthocyanidins-3 Figueroa *et al*., 2018)).

 تعتبر مستخلصات بذور الأفوكادو مضادات أكسدة مفيدة جدا في الصناعات لإطالة العمر الافتراضي للمنتجات الغذائية لأنها تحميها من الاحياء الدقيقة وتمنع أكسدة الدهون والبروتينات بسبب هجوم الجذور الحرة، بالإضافة إلى ذلك فهي تحمي من التعرض المباشر أو الأكسدة غير المباشرة التي تسببها الكاتيونات المعدنية حيث تحفز هذه الكاتيونات تكوين أنواع الأوكسجين التفاعلي التي تؤدي الى تلف مؤكسد يشمل الدهون والحامض النووي والبروتينات (Wettasinghe *et al*., 2001) ، ونظراً لتعدد المصادر المشتركة في توليد أنواع الاوكسجين التفاعلية ومجموعة متنوعة من الدفاعات الانزيمية وغير الانزيمية فإنّ حالة الاجهاد التأكسدي تؤدي إلى فائض من الأضرار التأكسدية للجزيئات الكبيرة والتي تؤثر على صحة الإنسان وتصيبه بالأمراض المختلفة كالشيخوخة والامراض المرتبطة بالعمر (Jordán *et al*., 2012) إنّ مضادات الأكسدة الطبيعية أفضل من مضادات الأكسدة الاصطناعية مثل (BHT) Butylated hydroxytoluene أو Butylated hydroxyanisole (BHA) الذي يصبح ساماً في الجرعات العالية. ازداد الاهتمام في السنوات الأخيرة بالمركبات المضادة للأكسدة الطبيعية لأن مضادات الأكسدة الاصطناعية يكون لها تأثيرات سامة ومطفرة على جسم الإنسان (Wijngaard *et al*., 2010) لذلك هدفت الدراسة الحالية إلى استعادة التراكيب الطبيعية ذات النشاط البيولوجي من بذور فاكهة الأفوكادو باستخدام طرائق استخلاص مختلفة كالإستخلاص بالميثانول والماء والاسيتون، وتحديد المذيبات الأكثر كفاءة في استخلاص مضادات الأكسدة بدرجة عالية، ومقارنة فعالية هذه المستخلصات باستخدام طرق التحليل الخاصة كتقدير الفعالية المضادة للأكسدة وقابلية اقتناص الجذور الحرة وتطبيقها في منع أكسدة بروتينات بيرغر اللحم البقري بتقدير كربونيل بروتين اللحم البقري ولفترات زمنية مختلفة.

**مواد البحث وطرائقه:**

**1 - تحضير العينات:**

جمعت فاكهة الأفوكادو (*Persea americana* Mill. Var. Hass) المستوردة من نيروبي (كينيا) في عام 2020 من سوق البصرة الكبير في محافظة البصرة (العراق) وكانت بنضج كامل دون أن تكون مفرطة النضج، طازجة، نظيفة، جيدة التكوين، متماسكة وخالية من الروائح أو النكهات الغريبة. عزلت النواة من الفاكهة يدويا وقطعت إلى قطع صغيرة وجففت على درجة حرارة 45°م بالمجفف الكهربائي وطحنت في مطحنة كهربائية لحين الحصول على مسحوق ناعم وخزنت في وعاء محكم الغلق معتم في الثلاجة لحين إجراء التحاليل. تمّ الحصول على اللحم الخاص ببيرغر اللحم بشكل عشوائي من العضلات الظهرية لبقرة وزنها 185 كغم، وتم التخلص من الجلد والدهون وقُطّع بسكين حاد إلى قطع صغيرة حوالي 2 إلى 3 سم وجُمّد عند درجة حرارة -20°م (ليس أكثر من 24 ساعة) لحين تصنيع البيرغر وإجراء التجارب وبثلاث مكررات لكل تجربة (Kose *et al*., 2020).

 **2- تحضير المستخلصات:**

حضرت مستخلصات بذور فاكهة الأفوكادو بأخذ 1 غم من ناتج البذور المسحوقة والمحضرة سابقاً وإضافة 100 مل من الاسيتون/الماء بنسبة (70:30) حجم/حجم، كما تمّ تحضير المستخلص الميثانولي بأخذ1غم من البذور المسحوقة وخلطها مع 200 مل من الميثانول/الماء بنسبة (50:50) حجم/حجم، وحرك المستخلصان تحت محرك مغناطيسي لغرض التجانس لمدة 1 ساعة، ثم ترك في عبوة معتمة في الثلاجة لمدة 24 ساعة. أُجريت عملية النبذ للمحلول 2500 دورة بالدقيقة درجة حرارة 4°م لمدة 10 دقائق, وجمع المحلول المرشح وأعيد استخلاص الراسب مرة اخرى. أُجريت عملية تبخير للمستخلص بواسطة المبخر الدوار (Buchi R-210)، وجفد في جهاز التجفيد ( Hetosicc CD 52, Denmark)، ثمّ حُفظ المستخلص عند درجة حرارة -20°م لحين الاستعمال (Francisco *et al*., 2018)، كماحضر المستخلص المائي بوزن 1 غم من البذور المسحوقة وخلطت مع الماء المغلي (200 مل) لمدة نصف ساعة، ثم رشح المستخلص بواسطة ورقة ترشيح رقم 1 وبخر الماء بواسطة المبخر الدوار وجمد تحت درجة -20°م ثم جفد وحفظ عند درجة حرارة -20°م لحين الاستعمال (Kose *et al*., 2020).

**3- الخصائص المضادة للأكسدة:**

**3-1- اختبار فعالية مستخلصات بذور الأفوكادو في تثبيط أكسدة حمض اللينوليك**

قُدّرت الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال حمض اللينوليك حسب طريقة Mitsuda *et al*, 1996)) وقد حُضّر حمض اللينوليك بخلط 0.2804 غم من حمض اللينوليك مع 0.2804 غم من Tween 20 (Polysorbate 20) و50 مل من الفوسفات الواقي (0.2 مولاري، 7pH) استخدم التركيز 800 ميكروغم/مل من المستخلصات وعينة الشاهد وعينة المقارنة (الفاتوكوفيرول)، وخلطت مع 2.5 مل من مستحلب حمض اللينوليك المحضر و2 مل من الفوسفات الواقي. حضن خليط التفاعل على درجة حرارة 37°م لمدة (20, 40, 60, 80, 100) ساعة في مكان مظلم لتسريع عملية الأكسدة. بعد كل وقت من عملية الحضن قُدر مستوى البيروكسيدات المتكونة بطريقة الثيوسيانات بإضافة 5 مل من الإيثانول 75% و0.09 مل من محلول ثيوسيانات الأمونيوم 30% و0.09 مل من كلوريد الحديدوز بتركيز 20 ملي مولاري (المحضر في 3.5% حمض الهيدروكلوريك)، بعدها ترك الخليط لمدة 3 دقائق. قدرت البيروكسيدات المتكونة بقياس امتصاصية العينات المتفاعلة مباشرة بجهاز الطيف الضوئي عند طول موجة 500 نانومتر.

**3-2- اقتناص جذر DPPH:**

تمّ قياس اقتناص المستخلصات للجذر الحر((DPPH) 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl حسب طريقة (Blois, (1958 حُضّر محلول DPPH)) 0.2 ملي مولاري بالايثانول، وأضيف 1 مل منه إلى 1 مل من تراكيز مختلفة من المستخلصات (50, 100, 150, 200, 250) ميكرولتر/مل، وسجلت امتصاصية محلول التفاعل بعد 30 دقيقة عند طول موجة 570 نانومتر. حُضّر حمض الأسكوربيك كعينة مقارنة بالتراكيز نفسها، وحسبت قابلية اقتناص الجذر الحر وفقا للمعادلة التالية:

اقتناص جذر = DPPH A1-A0) %100 × (A0/

حيث: A0 امتصاصية عينة الشاهد، A1 امتصاصية المستخلصات.

**3-3 اقتناص جذر أوكسيد النتريت NO:**

تم اقتناص مستخلصات بذور الافوكادو لجذر أوكسيد النتريت NO حسب طريقة Marcocci *et al*, (1994) إذ خلط مركب نتروبروسيد الصوديوم 5 ملي مولاري (المحضر في محلول سالين فوسفات الواقي phosphate-buffered saline pH (PBS)7.4 مع تراكيز مختلفة من عينات المستخلصات (100, 250, 500, 1000) ميكرولتر/مل، وحضنت عند (25°م, 150 دقيقة). خلطت كمية من ناتج تفاعل المستخلصات بعد الحضن مع كمية مساوية لها من كاشف جريز المحضر مباشرة بخلط كبريتات الانيلاميد 1% مع حمض الفوسفور 5% واثيل النفثالين ثنائي امين ثنائي كلوريد الهيدروجين في الماء 0.1%. قرأت امتصاصية ناتج التفاعل مباشرة عند طول موجة 570 نانومتر. أجريت طريقة العمل الخاصة بالمستخلصات نفسها على عينة الشاهد لكن بدون إضافة المستخلصات، كما حضرت العينة القياسية باستخدام الكاتكين وبالتراكيز نفسها، وقدرت نسبة اقتناص المستخلصات لجذر أوكسيد النتريت NO كما في المعادلة التالية:

اقتناص جذر اوكسيد النتريت% = A0)- /A1 100 × (A0

حيث :A0 امتصاصية عينة الشاهد وA1: امتصاصية المستخلصات.

**4**- **تصنيع بيرغر اللحم البقري:**

حضر بيرغر اللحم البقري حسب طريقة ( Rodríguez-Carpena *et al*, (2011بإضافة المستخلص المائي فقط بتركيز (1000, 800, 600, 400, 200) ميكروغرام/مل إلى عينات بيرغر اللحم البقري، إضافة إلى عينة الشاهد (بدون إضافة المستخلص)، وعينة المقارنة باستعمال مركب (BHA) عند التراكيز نفسها. حضرت المكونات لكل كيلوغرام من أقراص البيرغر كالتالي: 700 غم لحم بقري، 180 غم ماء مقطر، 100 غم دهن خلفي و20 غم كلوريد الصوديوم. فرمت جميع المكونات في فرامة كهربائية لحين الحصول على خليط متجانس. تم تحضير 28 قرص من البيرغر البقري (7 اقراص لكل معاملة في كل مرة). تم تشكيل الاقراص (حوالي 100 غم/ قرص) لإعطاء أبعاد متوسطة بقطر 10 سم وسماكة 1 سم. وزعت أقراص البيرغر الخام في أوعية ملفوفة بمادة بولي اثيلين. بعد ذلك خزنت لمدة 15 يومًا عند درجة حرارة +5 درجة مئوية في الثلاجة تحت ضوء أبيض متوهج؛ مما يحاكي ظروف عرض البيع بالتجزئة. قدٌر محتوى الكاربونيل (هيدرازونات البروتين) للعينات عند الأيام (0, 5, 10 و15).

**4-1- تقدير الكربونيل الكلي للبروتين:**

تمّ قياس أكسدة بروتينات اللحم البقري من خلال تقدير كمية الكربونيل الكلي بقياس مشتقات ثنائي- نتروفنيل هايدرازين dinitro phenyl hidrazine (DNPH) المتكونة وفقاً للطريقة الموصوفة من قبلOliver *et al*, (1987) وزن 1 غم من أقراص بيرغر اللحم البقري وتم مجانستها بنسبة 10:1 (وزن/حجم) في محلول فوسفات الصوديوم (20 ملي مولاري pH 6.5) المحتوي على كلوريد الصوديوم (0.6 مولاري)، ووضع 0.2 مل من المحلول المتجانس أعلاه في أنابيب ابندروف. اضيف 1 مل من محلول ثلاثي كلوريد حامض الخليك البارد 10% نبذ مركزيا (5000 دورة في الدقيقة لمدة 5 دقائق)، ثمّ أضيف حجم مساوي له من محلول DNPH بتركيز 0.2% (وزن/حجم) والمحضر في حمض كلور الماء 2 مولاري (قياس تركيز الكربونيل). حضن المحلول مدة ساعة على درجة حرارة الغرفة بعدها رسبت العينات بواسطة 1 مل من محلول TCA)) بتركيز 10% وغسلت مرتين باستخدام محلول الإيثانول وخلات الأثيل (1:1 حجم/حجم) لإزالة المتبقي من محلول DNPH، تمّ إذابة العينات في 1.5 مل محلول الفوسفات الواقي 20 ملي مولاري يحوي على جواندين حمض الهيدروكلوريك 6 مولاري guanidine HCl), pH 6.5)، وخلطت العينات بواسطة محرك مغناطيسي ثم نبذت مركزياً (5000 دورة في الدقيقة) لمدة دقيقتين لترسيب الأجزاء غير الذائبة. تمّ تقدير محتوى الكربونيل على شكل نانومولاري كربونيل/ملغم بروتين عن طريق قياس الامتصاصية على طول موجة 370 نانومتر واستعمال معامل الامتصاص 21.0 نانومولاري -1 × سم -1

**التحليل الاحصائي:**

حللت جميع البيانات على أساس متوسط الانحراف المعياري للقيم (SD) والمأخوذة من ثلاث مكررات لكل تجربة

 أجريت التحاليل باستعمال برنامج SPSS لتقدير الفروق المعنوية بين العينات عند مستوى معنوية p≥0.05.

**النتائج والمناقشة:**

**1- اختبار فعالية مستخلصات بذور الأفوكادو في تثبيط أكسدة حمض اللينوليك**

تمّ قياس التأثير التثبيطي لأكسدة حمض اللينوليك بطريقة ثايوسيانات الحديد حيث تتكون البيروكسيدات أثناء أكسدة حمض اللينوليك التي تقوم بأكسدة الحديد الثنائي Fe+2 إلى الحديد الثلاثي Fe+3 ويتكون معقد من ايونات السيانيد SCN- وايونات الحديديك Fe+3 والتي تقدر بقياس الامتصاصية عند طول موجة 500 نانومتر (Ahmed *et al*., 2018). يبيّن الشكل (1) فعالية مستخلصات بذور الأفوكادو (الميثانولي، والمائي والاسيتوني) المضادة لأكسدة حمض اللينوليك عند التركيز 100 ميكروغم/مل وبفترات حضن مختلفة ومقارنتها مع مركب الفاتوكوفيرول وعينة الشاهد إذ لوحظ أرتفاع شديد في امتصاصية عينة الشاهد وهو دليل على شدة أكسدة حمض اللينوليك، ويعود هذا لارتفاع إلى خلو عينة الشاهد من المستخلصات التي تعمل على تثبيط أكسدة اللينوليك، أما عينة المقارنة (الفا توكوفيرول) فقد أظهرت أقل قيمة امتصاصية أي أنها أكثرهم فعالية كمضادة للأكسدة وذلك لأنّ هذا المركب يعتبر مضاد أكسدة قوي, فيما اختلفت الفعالية المضادة للأكسدة باختلاف نوع المستخلص، فقد كان المستخلص الميثانولي أعلى فعالية مقارنة مع بقية المستخلصات، ويأتي بعده المستخلص المائي ثم المستخلص الاسيتوني، كما لوحظ انخفاض الفعالية كلما ازدادت فترة الحضن. عند تحليل النتائج احصائياً لوحظ وجود فروق معنوية في قيم الفعالية بين جميع عينات الاستخلاص ماعدا المستخلص الميثانولي ومركب الألفا توكوفيرول حيث لم يظهر فرق معنوي في قيمة الفعالية عند مدة الحضن 80 و100 ساعة عند مستوى معنوية p>0.05. إنّ ارتفاع الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص الميثانولي دليل على كفاءة الميثانول في استخلاص المركبات الفعالة لبذور الافوكادو ويعكس خصائصه الجيدة في تثبيط الأكسدة من خلال اقتراب قيمه من قيم الألفا توكوفيرول. توافقت هذه النتيجة مع نتائجSharma and Singh, 2012) ) إذ اعطى المستخلص الايثانولي لبذور فاكهة الأفوكادو عند التركيز 800 ميكرومولاري أعلى فعالية مضادة للاكسدة ، كما أكد Rodríguez-Carpena *et al*, (2011) احتواء مستخلصات بذور الافوكادو صنف Hass على كمية عالية من الفينولات المتعددة والتي تعطي الخصائص المضادة للأكسدة، وأشار (Melgara *et al*, 2018) أنّ أهم المركبات المضادة للأكسدة في مستخلصات بذور الأفوكادو هي المشتقات الفلافونيدية ومنها مركب Epicatechin.



**الشكل (1) الفعالية المضادة لأكسدة حمض اللينوليك لمستخلصات بذور الأفوكادو عند التركيز 100ميكروغم/مل وبمدة حضن (20-100) ساعة مقارنة مع الفا توكوفيرول**

**2- اقتناص جذر DPPH:**

جذر DPPH هو جذر حر ثابت ونطاق امتصاصيتة عند طول موجة 518-528 نانومتر وبالتالي فهو مفيد في الكشف عن فعالية اقتناص الجذور الحرة لمختلف المركبات. تعتمد طريقة التحليل على تفاعل محلول DPPH الكحولي بوجود الهيدروجين المعطى من قبل مضادات الأكسدة فالمستخلص المضاد للأكسدة يعادل جذر DPPH عن طريق التبرع بالهيدروجين (Sharma and Gupta, 2007). يوضح الجدول رقم (1) النسبة المئوية لاقتناص مستخلصات بذور الافوكادو لجذر DPPH باستعمال تراكيز مختلفة ومقارنة مع حمض الأسكوربيك، حيث يلاحظ أنّ المستخلص الميثانولي أعطى أعلى نسبة اقتناص تراوحت بين (29.1-73.0)% يليه المستخلص المائي بنسبة مابين (22.0-65.1)% وكان أقلها نسبة الاسيتوني (17.4-61.4)%، وذلك عند تراكيز تراوحت من 50 إلى 250 ميكروغم/مل. يلاحظ أنّ النسبة المئوية للاقتناص ارتفعت بزيادة تركيز المستخلصات المضادة للأكسدة، وعند تحليل قيم الأقتناص لوحظ وجود فرق معنوي (p>0.05) بين جميع العينات وبين حمض الأسكوربيك. توافقت هذه النتيجة مع (Francisco *et al*, (2018 الذين وجدوا أنّ أعلى قيمة لاقتناص جذر DPPH بواسطة المستخلص الميثانولي بعد دراستهم حول فعالية اقتناص 10 أنواع من مستخلصات بذور الأفوكادو صنف Persea americana Mill. var. Hass، وتوافقت النتائج مع (Kosinska *et al*, (2012); Pahua-Ramos *et al*, (2012 إذ أعطى المستخلص الميثانولي لبذور فاكهة الأفوكادو أعلى نسبة اقتناص لجذر DPPH مقارنة بالمستخلصات الأخرى.

**الجدول (1) متوسط النسبة المئوية لقابلية اقتناص مستخلصات بذور الأفوكادو لجذر DPPH**

**مقارنة مع حمض الأسكوربيك وبتراكيز مختلفة**

|  |  |
| --- | --- |
| تركيز المستخلصات(ميكروغم/مل) | % قابلية اقتناص DPPH |
| المستخلص الميثانولي | المستخلص المائي | المستخلص الأسيتوني | حمض الأسكورببك |
| 50 | e\*0.02 ± 29.1 | e0.01±22.0 | e0.03±17.4 | e0.12±44.0 |
| 100 | d0.10±38.0 | d0.03±34.7 | d0.04±25.2 | d0.13±57.2 |
| 150 | с0.02± 49.2 | c0.10±43.7 | c0.02±37.1 | c0.21±63.3 |
| 200 | b 0.23± 60.1 | b0.10±54.3 | b0.32±48.0 | b0.03±71.7 |
| 250 | 0.23 a± 73.0 | a 0.12±65.1 | a0.04±61.4 | a0.14±81.0 |

 \*الحروف المختلفة عموديا تعود الى الفرق المعنوي بين العينات عند مستوى معنوبة p>0.05.

**3- اقتناص جذر أوكسيد النتريت:**

أوكسيد النتريتNO) ) هو مركب سام ويعتبر من الجذور الحرة لخصائصه وتفاعلاته المشابهة للجذور الحرة لذلك فهو مسؤول عن العديد من التأثيرات الفيزيولوجية والمرضية Marcocci *et al*., 1994)). لوحظ نشاط الاقتناص المعتدل لجذر أوكسيد النتريت بواسطة مستخلصات بذور الأفوكادو، وقد أعطى المستخلص الميثانولي أعلى قيمة مقارنة مع بقية المستخلصات بنسبة تراوحت بين (28.9-81.9)% يليه المستخلص المائي بنسبة (20.9– 75.9)% ثم المستخلص الاسيتوني بنسبة (15.7–61.0)% عند التراكيز (100-1000) ميكروغم/مل، فيما ارتفعت نسبة الكاتكين إلى 94.7% عند التركيز 1000 ميكروغم/مل كما في الشكل رقم (2). لم يلاحظ أي فرق معنوي بين عينات المستخلصات، فيما لوحظ وجود فرق معنوي بين المستخلصات والكاتكين عند التركيز 250 و1000 ميكروغم/مل. أدى حضن المحلول المحضر في محلول البفر على درجة حرارة 25°م ولفترة زمنية قدرها 150 دقيقة إلى تكوين مركبات النتريت بشكل خطي اعتماداً على الوقت وقد اختزلت هذه المركبات بوساطة مستخلصات بذور الأفوكادو اعتماداً على التركيز. توافقت هذه النتيجة مع (Segovia *et al*, (2018 الذين وجدوا أن مستخلصات بذور الأفوكادو صنف *Persea Americana* Mill المستخلصة بالميثانول والإيثانول كانت لها قابلية عالية على اقتناص الجذور الحرة وقد أعطى المستخلص الميثانولي أعلى نسبة اقتناص مقارنة مع المستخلص الإيثانولي.



**الشكل(2) اقتناص مستخلصات بذور الأفوكادو بتراكيز مختلفة لجذر أوكسيد النتريت NO)) بالمقارنة مع الكاتكين**

**4- تقدير كربونيل بروتين بيرغر اللحم البقري:**

قُدرت كمية كربونيل البروتين الكلي لأقراص بيرغر اللحم المعززة بمستخلصات بذور الأفوكادو والمحفوظة بالتبريد حسب طريقة DNPH كما في الشكل رقم (3). بينت النتائج أن كمية كربونيل البروتين تزداد معنوياً مع زيادة فترة الخزن بالتبريد لجميع أقراص بيرغر اللحم وبلغت أعلى قيمة لها عند اليوم 15 من الخزن المبرد وأظهرت أقراص اللحم غير المعاملة (عينة الشاهد) أعلى قيمة فيما أعطت العينات المعاملة بالمستخلص المائي نتيجة مقبولة، أما العينات االمعاملة بالمركب BHA فقد أظهرت أقل قيمة لكربونيل البروتين. إن إضافة مستخلصات الأفوكادو إلى بيرغر اللحم البقري أدى إلى تثبيط أكسدة البروتينات إلى حد ما أثناء الخزن المبرد. أكدت نتائج الباحثين Ganhão *et al*, (2010a) وجود مركبات الكربونيل (α-amino adipic, γ-glutamic semi aldehydes) في منتجات اللحم المحفوظة بالتبريد.

تطابقت نتائج البحث مع نتائج Lund *et al*, (2007b) في دراستهم حول فطائر لحم الخنزير المبرد حيث ارتفعت قيمة الكربونيل معنويا مع زيادة فترة الخزن بالتبريد, وتوافقت النتائج مع نتائج (Haak *et al*, (2008); Rowe *et al*, (2004 الذين أكدوا إن بيرغر اللحم البقري اعطى أقل قيمة كربونيل مقارنة بلحم الخنزير.

وعند مقارنة نتائج الدراسة الحالية مع نتائج (Ganhão *et al*, (2010b لوحظ ان مستويات كربونيل البروتين في فطائر الخنزير المعرضة للطهي تقل بصورة كبيرة بعد إجراء تبريد لاحق مما يسلط الضوء على تأثير درجات الحرارة على الأستقرار التأكسدي لبروتينات العضلات, ، فيما وجد (Lund *et al*, (2007b ارتفاع كميات كربونيل البروتين أثناء خزن اللحوم النيئة بالتبريد واشارEstévez *et al*, (2009) الى ازدياد قيمة TBA) thiobar bituric acid) بشكل كبير في اللحوم المحفوظة بالتبريد مقارنة بقيمة الكربونيل وهذا طبيعي لأنّ أكسدة الدهون في اللحوم أسرع من التحلل التأكسدي للبروتينات.

يعود التثبيط التأكسدي لبيرغر اللحم البقري اثناء الخزن بالتبريد الى كفاءة مستخلصات بذور الأفوكادو لتكوينها الفينولي المضاد للأكسدة وغناها بالمركبات الفينولية كالبروسيانيدين والكلوروفيل والكاتكين و االهيدروكسي بنزويك والهيدروكسي سيناميك (Wang *et al*., 2010).

**الشكل (3) كربونيل بروتين بيرغر اللحم البقري النيء خلال 15 يوم من الخزن المبرد بالمقارنة مع مركبBHA وبتراكيز مختلفة**

**الاستنتاجات:**

- امتلكت مستخلصات بذور فاكهة الأفوكادو خواص مضادة للأكسدة اختلفت باختلاف مذيب الاستخلاص (الميثانول، الماء والاسيتون) وقد تمثلت بارتفاع الفعالية المضادة لأكسدة حمض اللينوليك لجميع المستخلصات وبنسب مختلفة، وقد امتلك المستخلص الميثانولي أعلى قيمة مضادة للأكسدة عند التركيز 100 ميكروغم/ مل ثم المستخلص المائي فالمستخلص الاسيتوني كما لوحظ أرتفاع شديد في امتصاصية عينة الشاهد أي أكسدة حمض اللينوليك، أما أكثرهم فعالية مضادة للأكسدة فقد امتلكها مركب الألفا توكوفيرول، وأبدت المستخلصات انخفاض الفعالية بأزدياد فترة الحضن.

- ارتفعت قابلية اقتناص المستخلصات للجذور الحرة كجذر أوكسيد النتريت وجذر DPPH وأمتلك المستخلص الميثانولي أعلى نسبة اقتناص بلغت 73.0, 81.9% يليه المستخلص المائي 65.1, 75.9% وكان أقلها نسبة اقتناص المستخلص الاسيتوني 61.4 ,61.0% على التوالي.

- ارتفاع الخصائص المضادة للأكسدة لبذور فاكهة الأفوكادو جعلها قادرة على تثبيط أكسدة بروتينات بيرغر اللحم البقري بالمقارنة مع عينة الشاهد التي ارتفعت فيها قيمة الكربونيل نتيجة تأكسد البروتينات فيما اعطت عينات المقارنة والمعاملة بمركب BHT أقل قيمة لكربونيل البروتين, وإزدادت قيمة الكربونيل معنوياً مع زيادة فترة الخزن بالتبريد وبلغت أعلى قيمة لها عند اليوم 15 من الخزن المبرد. تأتي الخواص المضادة للأكسدة لبذور الأفوكادو نتيجة احتواءها على المركبات الحيوية الفعالة التي جعلتها ذات قيمة غذائية وصحية**.**

**المراجع:**

Adodo, A. O. (1995). Reveling God's healing through nature. in: Ask for herbs for healing. 1st edition. Decency Prints, Ilorin, Nigeria. P. 283.

Ahmed, N. smith, R. W. Henao, J. J. A. Stark, K. D. and Spagnuolo, P. A. (2018). Analytical method to detect and quantity Avocation B in Hass Avocado seed and pulp matter. J. Nat. Prod. 81(4):818 – 824.

 Blois, M. S. (1958). Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature. 181 :1199 – 1200.

Calderon–Oliver, M., Escalona–buendia . H. B., Medina–Campos, O. N., Pedraza–Chaverri, j., Pedroza–islas, R. and ponce–Alguicira, E. (2016). Optimization of the Antioxidant and antimicrobial response of the combined effect of nisin and avocado by products . LWT Food Sci. Technol.65: 46–52. http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.048.

Davies, M. j. and dean, R. T. (2003). Radical–mediated protein oxidation . Oxford : Oxford Science Publication.

Dias, M. L., Sousa, M. L., Alves, R. C. and Ferreira, C.F.R. (2016). Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds : a review. Ind. Crops Prod. 82 :9–22.

Estevez, M., Ollilainen, V. and heinonen, M. (2009). Analysis of protein oxidation markers α– aminoadipic and γ–gluamoic semiadehyades in food proteins using liguid chromatography (LC)– electrospray ionization (ESI)–multislage tandem mass spectrometry (MS). joumal of Agricultural and food Chemistry.57(9) :3901–3910.

Figueroa, J. G. Borras–Linares,I., Lozano–Sanchez, J. and segura–carretero, A. (2018). Comprehensive Characterization of phenolic and other polar compounda in the seed and seed coat of avocado by HPLC– DAD – ESI – QTOF– MS . food res int , 105 : 752–763 . DOI: 10.1016/j.foodres.2017.11.082.

Francisco, J. S., Hidalgo, G. I., Villasante, J., Ramis, X. and Almajano, M. P. (2018). Avocado seed : A Comparative study of Antioxidant content and Capacity in Prokecting Oil models from Oxidation. Molecules. 23 (2421) :1–14.

Ganho, R., Morcuend, D. and Esteves, M. (2010 a). tryptophan deplation and formation of α–aminoadipic and γ–glutamic semialdehydes in porcine burger patties with added phenolic–rich fruit extracts . Joumal of Agricultural and food Chemistry. 58 (6): 3541–3548.

Ganho, R. Morcuend, D. and Esteves , M. (2010b). protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit exracts : influence on color and texture deterioration during chill storage. Meat Science. 85(3) : 402–409.

Gomes, F. S., Sanchez. S. P. Iradi M.G.G. Azman, N.A.M. and Almajano, M.P. (2014). Avocado seeds : Extration optimization and possible use as antioxidant in food Antioxidants. 3 (2): 439–454.

 Haak, L., Raes, K., Van Byck, S. and De smet, S. (2008). Effect of dietary rosemary and a tocopheryl acetate on the oxidative stability of raw and cooked pork following oxidized linseed oil administration. Meat Science. 78 (3):239–247.

Jordan, M. J., Lax,V., Rote, M. C., Loran, S. and Sotomayor, J. A. (2012). Relevance of carnosic acid carnosol and rosmarinic acid concentrations in the in vitro antioxidant and antimicrobial activties of Rosmarinus officinalis L. Methanolic extracts. J. Agric food chem. 60 (38):9603–9608.

Kim, M. J. and Uhl, K. (2011). Clinical pharmacology and Therapeutics. 89 (1) :3–9.

Kose, L. P., Bingo,z ., kaya, R., Ahmet, C. G., Akincioglu, H., Durmaz, L., Alwasel, S. H. and Gulclin, I. (2020). Anticholinegic and antioxidant activities of avocado(follum perseae) leaves– phytochmical content by LC– MS/MS analysis. international joumal of food properties. 23(1) :878–893.

Kosinska, A., Karama, C. M., Estrella, I., Hernandes, T., Bartolome, B. and Dykes, G.A. (2012). Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of Perse americana Mill. Peels and seeds of two vareties. J. Agric food chem.60 (18):4613–4619.

Lund, M. N., Hviid, M. S. and skibsted, L. H. (2007b). The combined effect of antioxidants and modified atmosphere packaging on protein and lipid oxidation in beef patties during chill storage. meat science. 76 (2) :226–233.

Lund, M. N., Heinonen M. Baron C. P. and Estevez M. (2011). protein oxidation in muscle foods: A review. Molecular Nutrition & food Research. 55 (1):83–95.

Marcocci, L. Maguire, J. J., Droy–Lafaix, M. T., Packer, L. (1994). The nitric oxide–scavenging properties of Ginkgo biloba extract EGb 761. Biochem Biophs Res commun. 201 (2) :748–755.

Melgara, B., Diasa, M., Ciricc, I., Sokovicc, A., Eaperanza, M., Garcia–Castellob, M. Rodriguez–lopezd, A. D., Barrosa, L. and lsabil, C. R. F.(2018). Baoactive charactezation of Perse americana Mill by–products : A rich source of inherent antioxidants. industrial crop and products. 111 :212–218. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.024.

Mitsuda, H., Yasumode, K., Lwami, F. (1996 ). Antioxidant action of indole compounds during the autoxdation of linoleic acid Eiyo to Shokuryo. 19 (1A) :210–214 Oliver, C. N., Ahn, B., Moerman, E. J., Goldstein, S. and Stadtman, E. R. (1987). Age–related changes in oxidized protein. The jounal of Biological chemistry. 62 (12) : 5488– 5491.

Pahua–Ramos, M. E., Ortiz–Moreno. A. Chamorro–cevallos, G. Hernadez–Navarro. M. D. Garduno–Siciliano, L. Necoechea–Mondragon, H. and Hernadez–Ortega, M. (2012). Hypolipidemic effect of Avocado (Perse americana Mill) seed in a hypercholesterolmic mouse model. plant foods Hum. Nutr. 67 (1):10–6.

Pacheco, A., Rodriguez–Sanchez, D. G., Villarreal–Lara, R., Navarro– Silva, J. M., Senes– Guerrero, C. and Hernandez–Brenes, C. (2017). Stability of the antimicrobial activity of acetogenins from avocado seed under common food processing condition against clostridium sporogenes negetative cell growth and endospre germination. int. J. food Sci. technol. 52 (11) :2311–2323.

Rodriguez–Carpen, J. G., Morcuende, D., Estevez, M. (2011). Avocado by–products as inhibitors of color deterioration and lipid and protein oxidation in raw porcine patties subjected to chilled storage meat science. 89 (2) :166–173.

Rowe, L. J., Mddok, K. R., Lonergan, S. M. and Huff–Lonergan, E. (2004). Influence of early postmortem protein oxidation on beef quality . Journal of Animal Science 82 (3) : 785 –793.

Sharma, S. and kand Gupta, V. K. (2007). In vitro antioxidant study of flcusre ligiosa Linn. Root int J. chem. Sci. 5 (6) :2365–2371.

Sharma, S. K. and singh, A. P. (2012). In vitro antioxidant and free Redical Scavenging activity of Nardostachays jatamansi DC. Journal of Acupuncture and meridian studies. 5 (3) :112–118. doi : 10.1016/j.jams.2012.03.002

Sharma, K., Mahato, N. Cho, M. H. and Lee, Y. R. (2017). Converting citrus wastes into value added products:economis and environmently. friendly approaches Nutrition. 34:29–46. http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2016.09.006 Segovia, F. J., Hidalgo, G. I., Villasante, J., Ramis, X. and Almajano, M. P.(2018). Avocado seed : Acomparative study of Antioxdant content and capacity in protecting oil models from oxidation. Molecules. 23 (2421) :1–14. doi:10.3390/molecules23102421

Wang, X., Zhao, M., Su, G., Cai, M., Zhao, C., Huang, J. and Lin, J. (2015). The antioxidant activities and the xanthine oxidase inhibition effects of walnut ( Juglans regia L.) fruit stem and leaf. Int. j. food Sci technol. 50 (1) :233–239.

Wang, W., Bostic, T. R. and Gu. L. (2010). Antioxdant capacities procyanidins and pigment in avocado of different strains and cultivars. food chemistry. 122 (4) :1193–1198.

- Wettasinghe, M., Shahidi, F., Amarowicz, R. and bou–Aaid, M. M.(2001). Phenolic acids in defatted seeds of (Borago officinalis L.). food chem. 75 (1) :49–56.

Wijngaard, H. H., Brunton,N., Pacheco, A., Rodriguez-Sanchez, D.G.,Villarreat-Lara,R., Navarro-Silva, J.M. and Senes–Guerrrero, C. (2010). The optimization of solid–liquid extraction of antioxidants from apple pomace by response surface methodology. J. food Eng. 96 (12) :1324–140.

**Comparison of Avocado Seed Extracts And Study of Their Antioxidant Properties and its Application in Food System**

**Alya Jameel Ali\*(1)**

(1) Department of Food Science, College of Agriculture**,** University Of Basrah,

Basrah,Iraq

(\*Corresponding author: Dr. Alya Jameel Ali, alya.ali@uobasrah.edu.iq )

Received:5/06/2021 Accepted: 30/12/2021

**Abstract**

The aim of the research was to study the antioxidant properties of methanol, aqueous and acetone extracts of avocado seeds (*Persea americana* Mill. Var. Hass) taken from the markets of Basra Governorate in Iraq and imported from Nairobi (Kenya), including testing the effectiveness of avocado seed extracts in inhibiting the oxidation of linoleic acid and its ability to capture The extracts of two types of free radicals (DPPH, NO), were compared with the standard antioxidant properties such as alpha-tocopherol, catechins and ascorbic acid in different ways and the evaluation of oxidation of beef burger was carried out by estimating the carbonyl proteins of meat by (DNPH) method.. The results showed the high ability of the extracts to inhibit the peroxides of the linoleic acid emulsion. The more efficient extract was the methanolic extract, the aqueous extract and the acetone extract respectively. The percentage of methanolic, aqueous and acetonic extract of DPPH free radical ranged (29.1-73.0), (22.0-65.1) and (17.4-61.4)%, respectively at concentrations (50-250) microgram/ml, while the scavenging of nitrite oxide ranged (28.9-81.9), (20.9-75.9) and (15.7-61.0)% for the ethanolic, aqueous and acetonic extract, respectively, for concentrations (100-1000) micrograms / ml, and the results also showed the activity of the samples to inhibit burger beef proteins oxidation by estimating proteins carbonyl. With different concentrations of extracts when stored in cold storage for 15 days. The bioactivity of avocado seeds provides an added value for organic waste in addition to its economic value

 **Key words**: Avocado seeds, Antioxidant properties, Protein Carbony.